

1/2

D3

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 07-270373A

(43)Date of publication of application : 20.10.1995

(51)Int.Cl.

G01N 27/327

(21)Application number : 06-064146

(71)Applicant : TOPPAN PRINTING CO LTD

(22)Date of filing : 31.03.1994

(72)Inventor : MORIMITSU YOSHINORI

ARAI JUNICHI

AIZAWA MASUO

(54) ENZYME ELECTRODE**(57)Abstract:**

PURPOSE: To obtain a disposable electrode excellent in response by coating a measuring electrode with a conductive ink containing at least a conductive powder, enzyme, an electron transmitter, a binder and a water absorbable substance.

CONSTITUTION: As the conductive powder, carbon black is pref. from the aspect of surface hydrophilicity, ink aptitude or the like and, as enzyme, oxidoreductase is used. As the electron transmitter, a redox compd. functioning as the electron transmitter of oxidoreductase is used. As the binder, natural polymers such as starch, cellulose, alginic acid or the like and synthetic polymers such as an acrylic resin, a butyral type polymer, a vinyl acetate type polymer or the like are used. The content of the binder is about 5-50% of the total solid of conductive ink. As the water absorbable substance, for example, cellulose, starch or chitin is used. When an electrode is formed using the conductive ink containing those components, a soln. to be inspected is rapidly diffused throughout the electrode to be absorbed up to the interior thereof and a reaction place increases to bring about the same effect as an increase in a surface area.

2/2

[Claim 1] An enzyme electrode, comprising an electrode system having at least a measuring electrode and an counter electrode which are provided on an insulating substrate, wherein the measuring electrode comprises a coating of an electrically-conductive ink composition containing at least an electrically-conductive powder, an enzyme, an electron-transfer substance, a binder, and a water-absorbing substance.

[Claim 2] The enzyme electrode of Claim 1, wherein the content of the water-absorbing substance is from 0.5 to 20 percent based on the total solids of the electrically-conductive ink composition.

[Claim 3] The enzyme electrode of Claim 1, wherein the coating of the electrically-conductive ink composition is formed by a printing method.

Detailed Descriptions of the Invention:

.....

[0009] The enzyme to be contained in the ink composition may be any oxidoreductase, and, for example, glucose oxidase, cholesterol oxidase, lactate oxidase, alcohol oxidase, xanthine oxidase, pyruvate oxidase, aldehyde oxidase, or the like may be used.

[0010] The electron-transfer substance may be any redox compound capable of functioning as an electron carrier for the oxidoreductase. Examples of the electron-transfer substance include ferrocene and derivatives thereof, benzoquinone, methylene blue, 2,6-dichloroindophenol, and metalocyanide complexes.

.....

[0018] <Example 1> An example where glucose in blood is measured using glucose oxidase is shown below. 10 g of acetylene black (manufactured by ADEKA CORPORATION), 1 g of potassium ferricyanide, 20 g of a 10% carboxymethylcellulose solution, 40 g of a solution of 10% of a polyester resin Elitel UE-3200 (manufactured by UNITIKA, LTD.), 100 g of cellosolve acetate, 10 g of a cellulose powder Type C (manufactured by Toyo Roshi Kaisha, Ltd.) as a water-absorbing substance, and 2.5 g of PQ Polymer PL-100 (manufactured by OSAKA ORGANIC CHEMICAL INDUSTRY LTD.) were mixed and dispersed in a triple roll mill. To the mixture was added 0.5 g of glucose oxidase (8 units/mg, manufactured by Merck KGaA) and mixed to form a uniform mixture, so that an electrically-conductive ink composition was obtained.

[0019] As shown in Fig. 1, a measuring electrode (3) was formed on an insulating polyethylene terephthalate substrate (2) provided with a silver counter electrode (1) by a screen printing method using the enzyme-containing, electrically-conductive ink composition. In this process, the screen plate used was 150 mesh, and the sol thickness was 50 μm . An insulating polymer layer (4) was formed thereon, while the electrodes were partially left uncovered.

.....

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平7-270373

(43)公開日 平成7年(1995)10月20日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 27/327			G 0 1 N 27/ 30	3 5 3 R

審査請求 未請求 請求項の数3 O L (全 5 頁)

(21)出願番号 特願平6-64146

(22)出願日 平成6年(1994)3月31日

(71)出願人 000003193

凸版印刷株式会社

東京都台東区台東1丁目5番1号

(72)発明者 守満 美紀

東京都台東区台東一丁目5番1号 凸版印刷株式会社内

(72)発明者 新井 潤一

東京都台東区台東一丁目5番1号 凸版印刷株式会社内

(72)発明者 相澤 益男

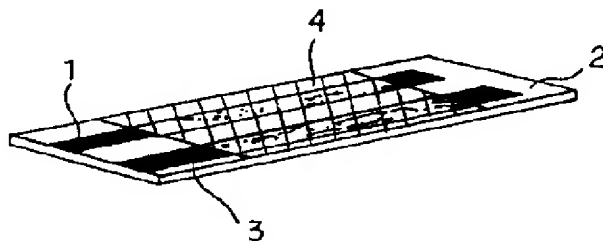
東京都杉並区天沼2丁目19番14号

(54)【発明の名称】 酵素電極

(57)【要約】

【目的】優れた応答性を持ち、大量生産技術により製造可能な一回限りの使い捨て酵素電極を提供する。

【構成】絶縁性基板上に設けられた少なくとも測定極と対極とを有する電極系において、測定極が少なくとも導電性粉末、酵素、電子伝達物質、バインダーおよび吸水性物質を含む導電性インキを塗工したものからなる酵素電極である。実施態様としては、前記吸水性物質の含有量が、前記導電性インキの全固形分中0.5~20パーセントである上記の酵素電極、あるいは前記導電性インキの塗工を印刷方式により形成した上記の酵素電極が挙げられる。



【特許請求の範囲】

【請求項1】絶縁性基板上に設けられた少なくとも測定極と対極とを有する電極系において、測定極が少なくとも導電性粉末、酵素、電子伝達物質、バインダーおよび吸水性物質を含む導電性インキを塗工したものからなることを特徴とする酵素電極。

【請求項2】前記吸水性物質の含有量が、前記導電性インキの全固形分中0.5～20パーセントである請求項1記載の酵素電極。

【請求項3】前記導電性インキの塗工を印刷方式により形成したことを特徴とする請求項1記載の酵素電極。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【産業上の利用分野】本発明は、血液、尿等の体液試料中の成分や食品中の成分濃度を簡易に定量する酵素電極に関する。

【0002】

【従来の技術】近年、検量線の校正や電極の洗浄が不要、すなわちメンテナンスフリーで小型化が可能な使い捨て型の酵素電極が注目されている。酵素電極とは、一般には電極と固定化酵素から構成され、酵素反応による物質変化を電極により電気信号の変化として取りだし、その酵素が特異的に作用する基質の濃度を測定するものである。これを実現する一つの形態として、導電性粉末と酵素または／および電子伝達物質をポリマーとともに混合、固定化して電極とする方法がある。この混合法では、酵素および電子伝達物質が電極となる導電性粉末の近傍に、あるいは表面に吸着して存在しているため、電子授受がスムーズに行われ、優れた応答性が得られる。

【0003】例えば、特開平2-298855号公報や特表平3-503931号公報には、導電性粉末と酵素および電子伝達物質を含んで成る電極部を持つものが報告されている。ただし、これらはペースト状の電極成分を電極ホルダ等の容器につめて用いるものであり、使い捨てあるいは小型のセンサーにふさわしい形態とはいえない。特願平5-223239号のように、この混合インキを印刷方式と組み合わせることにより、電極形成と酵素固定化の両者が一工程で作成できるので、大量生産が可能となり、製造コストの低い、使い捨て型の酵素電極を実現する事ができる。

【0004】電極の性能を最大に引き出すためには、電極で均一にかつ速やかに反応を進行させる状態を作ることが必要である。そのための1つの方法として、電極の表面に多孔体や親水性高分子層からなる吸水層を設けたものがある。電極表面に検液を速やかに一定量供給するための工夫である。ところが、吸水層を電極の表面に層状に重ねた構造では、接着性が低く、製造過程や使用中に剥離脱落しやすいという問題点があった。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】よって本発明が解決し

ようとする課題は、優れた応答性を持ち、大量生産技術により製造可能な一回限りの使い捨て酵素電極を提供する事である。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明は、絶縁性基板上に設けられた少なくとも測定極と対極とを有する電極系において、測定極が少なくとも導電性粉末、酵素、電子伝達物質、バインダーおよび吸水性物質を含む導電性インキを塗工したものからなる酵素電極である。実施態様としては、前記吸水性物質の含有量が、前記導電性インキの全固形分中0.5～20パーセントである上記の酵素電極、あるいは前記導電性インキの塗工を印刷方式により形成した上記の酵素電極が挙げられる。

【0007】本発明に用いるバインダーとしては、でんぷん系、セルロース系、アルギン酸系、ガム類、タンパク質系などの天然高分子類、アクリル系、ブチラール系、酢酸ビニル共重合体系、ポリアミド系、ポリエステル系、ポリウレタン系などの合成高分子類が挙げられる。水溶性のバインダーを用いる場合には、非水溶性バインダーと混合して用いる必要がある。水溶性バインダーのみでは使用中に電極部の溶解、脱落が起きてしまうため安定性に欠け、測定ができなくなる。バインダーの含有量は、インキとしての流動性や印刷適性とのバランスで決定され、通常導電性インキの総固形分の5～50%程度である。さらに好ましくは、10～30%である。

【0008】導電体として働く導電性粉末としては、金属およびその酸化物、カーボン、グラファイト等の顔料が挙げられるが、コスト、表面の親水性およびインキ適性等よりカーボンブラックが好ましい。特に、ストラクチャー（立体構造）が発達した導電性カーボンブラックが望ましい。導電性粉末の含有量は、導電性とインキ特性（粘度、流動性等）、印刷特性（基材への接着性）等を加味して、他の混合要素との兼ね合いにより決定され、30～70%程度、さらに好ましくは40～60%である。

【0009】インキ中に含有させる酵素は、酸化還元酵素であれば特に制限なく、たとえばグルコースオキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、ラクテートオキシダーゼ、アルコールオキシダーゼ、キサンチンオキシダーゼ、ビルバートオキシダーゼ、アルデヒドオキシダーゼ等が用いられる。

【0010】電子伝達物質としては、酸化還元酵素の電子伝達体として機能するレドックス化合物であれば特に制限されない。具体的には、フェロセンおよびその誘導体、ベンゾキノン、メチレンブルー、2,6-ジクロロインドフェノール、金属シアン化錯体等が挙げられる。酵素と電子伝達物質の含有量は、両者を合わせて総固形分の5～20%程度となるのが好ましい。これらの含有割合を高くすると酵素反応も増すため検出感度も向上す

るが、総固形分＝バインダー＋導電性粉末＋（酵素＋電子伝達物質）＋吸水性物質であるから、導電性粉末の割合が低くなり、導電性が低下して電極としての働きを果たせなくなるため、含有量の調整が必要である。特に酵素および導電性粉末は高価であるため、性能を発揮できる範囲では含有量は少ない方が好ましい。また、その中で酵素と電子伝達物質の割合を決定する。この割合は、それぞれの酵素種、活性および電子伝達物質の特性によって決定される。

【0011】本発明に用いられる吸水性物質とは、水湿潤性を持つが、水または溶剤には不溶の物質である。具体的には、セルロース、でんぷん、キチン、キトサン、アガロース等の多糖類およびその変性物質、ポリアクリル酸塩、無水マレイン酸共重合体、ポリビニルアルコール、ポリエチレンオキサ이드等の水溶性高分子を適度に架橋して不溶化した吸水性高分子、シリカゲル、ゼオライト、アルミナ等の無機の多孔体および有機物の多孔体等が挙げられる。これらの中から2、3種類を組み合わせ用いるのが好ましい。例えば、吸収性高分子は吸水能が高いため速やかに検液を吸収するが、膨潤しやすく電極の安定性に欠ける。そこで低吸収性の物質を混合することによって、膨潤を抑えながらもある程度の吸収能を保持できるようになる。特に多糖類の変性物質と高吸収性高分子の組み合わせが良好な特性を現す。

【0012】吸水性物質の含有量は、導電性インキ中の固形分の2～20％程度が好ましい。2％以下では十分な吸水能を得られず、20％以上ではインキとしての流動性が低下し、また電極とした後も基材との接着力が弱く脱離しやすいものになってしまう。さらに、必要以上の吸水能を持つため、かえって吸液にムラが生じて不安定要因となる恐れも生じる。

【0013】絶縁性基板としては、セラミック、ガラス、ガラスエポキシ、プラスチック等、検液によって侵されないものであればなんでもよいが、使い捨てであるため安価で扱い易いポリ塩化ビニル、ポリエステル、ポリエチレン、ポリプロピレン等のプラスチックフィルムが好ましい。また、生分解生プラスチック等も廃棄も面から好ましい。

【0014】なお、一般的に体液中に含まれる特定の生体成分、例えばアスコルビン酸等によって測定中検体のpHが変化しないよう緩衝作用を働かせるため、緩衝剤を添加してもよい。細粉碎した固体の緩衝剤を導電性インキ中に混合する、あるいは水溶液として添加してもよい。電極が測定時検体と接したときに、検体中の水分によって電極中の固体の緩衝剤が溶かされて緩衝作用を発揮する。緩衝剤は用いる酵素の至適pHに合わせて種類を選択し、測定に用いる検体量から1電極あたりに加える量を計算して決定する。例えばグルコースオキシダーゼはpH7付近で最大の活性を示すため、りん酸系の緩衝剤を選び、検体に溶け出した時の濃度が、0.05～

0.025M程度となるように含有量を定める。

【0015】印刷方法としては、スクリーン印刷の他、グラビア印刷、グラビアオフセット印刷、ノズルコーティング、ディスペンサー印刷、インキジェット印刷等が応用できる。例えば、スクリーン印刷方法にて形成する場合には、インキ粘度が10～2000ポイズ程度になるよう調整し、スクリーン編み目100～400メッシュのスクリーン版を用いて印刷し、電極部を形成する。

【0016】

【作用】導電性インキ中に吸水性粉末を混合して電極を形成する事により、従来よりも検液が速やかに電極全体に行きわたる。また、これまで電極表面でのみ反応していたものが、検液が内部にまで吸収されることにより反応の場が増し、表面積が増すと同様の効果が得られる。電極内部に混合しているため、バインダーで結着され、脱落等もない。

【0017】

【実施例】以下、実施例と比較例を挙げて詳細に述べる。

【0018】＜実施例1＞グルコースオキシダーゼによって血液中のグルコースを測定する場合の例を示す。アセチレンブラック（旭電化工業（株）製）10g、フェリシアン化カリウム1g、カルボキシメチルセルロース10％溶液20g、ポリエステル樹脂エリテールUE-3200（ユニチカ（株）製）の10％溶液40gおよび酢酸セロソルブ100g、吸水性物質としてセルロースパウダー Cタイプ（東洋紙（株）製）10g、PQポリマー PL-100（大阪有機化学（株）製）2.5gを3本ロールにて混合分散させた。これに、グルコースオキシダーゼ（メルク社製 8ユニット/mg）0.5gを添加し、均一になるまで混合して導電性インキを作製した。

【0019】図1に示すように、銀対極（1）を設けたポリエチレンテレフタレートからなる絶縁性の基板（2）に、上述の酵素含有導電性インキを用いてスクリーン印刷法によって測定極（3）を形成した。このとき用いたスクリーン版は、150メッシュ、ゾル厚50μmである。その上に電極を一部残して絶縁性のポリマー層（4）を上設けた。このようにして作製した酵素電極を用いて、グルコース濃度と出力電流の関係を調べた。グルコース濃度を变化させた溶液を電極上に50μl滴下し、測定極と対極との間に0.7Vの直流電圧を印加して30秒後の電流値を測定した。結果を図2に示す。グルコース濃度0～500mg/dlの範囲で良好な応答が得られた。また、各電極部の吸液量を（表1）に示す。この時の平均値は約10μlで、ばらつきは非常に小さいものであった。

【0020】

【表1】

試料番号	吸水量(μl)
1	12
2	9
3	9
4	11
5	11
平均値	10.4

【0021】＜実施例2＞カーボンブラックーコンダクテックスSC（コロンビアンカーボン社製）15g、フェロセン2g、ブチラル樹脂エスレック（ユニチカ（株）製）の5%溶液100gおよびブチルセロソルブ100gをペイントシェーカーにて3時間混合分散させた。これに、グルコースオキシダーゼ（東京化成（株）製 20ユニット/mg）0.3gを0.1Mりん酸緩衝液5mlに溶解したものを添加し、均一になるまで混合した後、吸水性物質として不溶性デキストラン微粒子（日清紡（株）製）6.5gおよびKIゲル201K-F2（（株）クラレ製）1gを添加して導電性インキを作製した。この導電性インキを用いて、ディスペンサー印刷方式によって電極部を形成する以外は実施例1と同様にして電極を作製した。この酵素電極を、濃度が200mg/dlのグルコース水溶液を201滴下し、測定極と対極との間に0.4Vの直流電圧を印加して一定時間後の電流値を測定した。結果を図3に示す。グルコース添加後10秒程度で安定電流値が得られた。

【0022】＜比較例＞実施例2において、吸水性物質を添加しない以外は全く同様の操作による実験を行なっ

た。結果を図4に示す。グルコース添加後安定電流値に達するまでに30秒程度かかった。また、同じ電極面積であるにもかかわらず、電流の絶対値が実施例2と比較して小さいものとなった。

【0023】

【発明の効果】本発明の酵素電極では、従来よりも検液が速やかに電極全体に行きわたるため反応安定時間の短縮につながる。また、検液が内部に吸収されることにより、検液との接触面積が増し表面積が増すのと同様の効果が得られる。すなわち、電極面積および膜厚が小さくても十分な応答性が取れるため、酵素量やメディエータ等が少なく済むので経済効果も上がり、吸水性物質の性質により、電極からの酵素や電子伝達物質の流出が抑えられる。さらに、電極内部に混合しているため、バインダーで結着され、脱落等もない。また、すべての必要要素を内部に混合してインキ化するために、1工程で電極を形成することが可能であり、生産効率も良い。

【0024】

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の一実施例に係る酵素電極の斜視図である。

【図2】実施例1における実験結果グラフ図である。

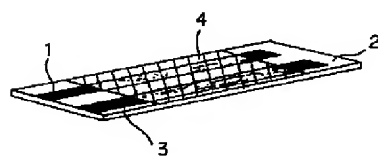
【図3】実施例2における実験結果グラフ図である。

【図4】比較例における実験結果グラフ図である。

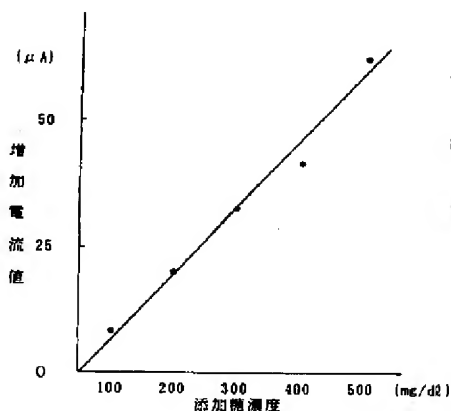
【符号の説明】

1…対極 2…ポリエチレンテレフタレート基板 3…導電性インキからなる測定極 4…絶縁性ポリマー層

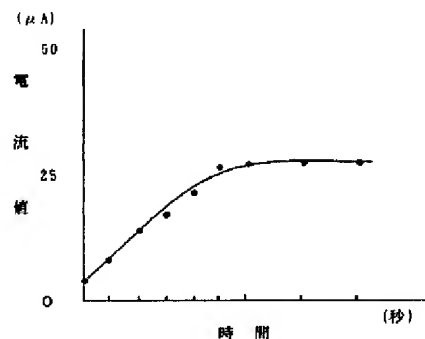
【図1】



【図2】



【図4】



【図3】

